

率显著增加,持续至 24 h CD4阳性表达率 3 h最高,主要集中在汇管和小叶中央静脉区,6 h下降,弥散性分布于肝小叶,至 12 h和 24 h阳性表达率又行显著性升高,表明早期 CD4升高是 LPS所致,CD4是 KC表面存在的受体,在 LPS介导 KC激活信号传导中起启动作用,在 6 h后显著升高是被释放的细胞因子进一步促进 KC表达 CD4提示体内维持 KC对 LPS反应性。免疫组化试验还显示 LPS损伤肝组织内 NOS eNOS阳性率显著升高并持续 24 h与所测肝匀浆中总 NOS的结果相吻,进一步证实 NO参与了肝损伤,五灵胶囊对早期 NOS和 eNOS表达无影响,对 12 h NOS和 eNOS高表达量有降低作用,这与肝匀浆中 NOS活性测定结果一致。提示其对 KC和肝细胞内 NOS eNOS阳性表达起调节作用。五灵胶囊可使损伤肝组织内 TNF- α 阳性表达率下降,CD4阳性表达率下调,提示五灵胶

囊抑制 LPS促进 KC表达 CD4降低细胞因子生成,同时反映 LPS所致肝损伤的肝功酶水平明显下降,提示了五灵胶囊治疗肝损伤的作用机制。

参考文献:

- [1] 金珍婧,李东复,太金华,等.慢性肝病患者血清细胞因子便化与临床意义[J].中国免疫学杂志,2000 16(7):390-391.
- [2] 张明森,王宁明,顾长海,等.内毒素诱导产生一氧化氮导体外肝细胞损害[J].解放军医学杂志,1999 24(4):262-264.
- [3] 王胜春,张英志,胡咏武,等.五灵胶囊对 LPS诱导枯否细胞释放细胞因子的影响[J].第四军医大学学报,2004 25(21):1947-1951.
- [4] 冯俊明,史景泉,刘友生,等.脂多糖激活大鼠库普细胞产生的递质对肝细胞损伤的影响[J].消化外科,2003 29(1):16-19.
- [5] 余宇耀,刘树人,李烁亮.一氧化氮在急性肝衰竭中的作用[J].中国医师杂志,1999 1(8):17-19.

痛泻要方对肠道高敏感性肠易激综合征大鼠模型疗效和作用机理的研究

赵玉斌 李佃贵*

(河北医科大学中医院 河北石家庄 050011)

关键词:痛泻要方;肠易激综合征;5羟色胺;P物质;降钙素基因相关肽

摘要:目的:探讨痛泻要方(白术、白芍、陈皮等)对肠易激综合征大鼠模型的疗效和作用机理。方法:采用结肠慢性刺激法制作肠道高敏的肠易激综合征大鼠模型。将实验动物分为空白对照组、模型对照组、西药(匹维溴铵)组、中药低剂量组、中药高剂量组。空白对照组和模型对照组以生理盐水按 10 mL/kg灌胃,西药组以匹维溴铵按 10 mL(15 mg)/kg灌胃,中药低剂量组、中药高剂量组分别以痛泻要方药液按 10 mL(15 g)/kg和 10 mL(30 g)/kg灌胃,均连续给药 30 d每天二次。观察各组大鼠肠道内扩张引起腹部抬起和背部拱起的容量阈值和大鼠肠道内不同容量下扩张期间腹壁收缩次数,检测 5羟色胺(5-HT)、P物质(SP)、降钙素基因相关肽(CGRP)含量。结果:与对照组相比,各治疗组大鼠行为学和电生理指标均有明显改善;各治疗组模型大鼠 5-HT SP含量明显下降,CGRP含量增加,且有一定的量效关系。结论:痛泻要方对肠易激综合征大鼠模型的作用机制可能是通过降低模型大鼠血清 5-HT 血浆 SP含量,减弱背角神经元兴奋性,从而提高内脏痛阈,消除肠道过敏,从而达到治疗目的。

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:1001-1528(2006)06-0852-03

痛泻要方由白术、白芍、陈皮和防风组成,为《景岳全书》所载的名方,具有健脾舒肝、止痛止泻的作用,主要用于肠易激综合征(irritable bowel syndrome,IBS)的治疗。本研究通过对内脏高敏感性

IBS大鼠模型行为学和电生理指标、血生化的观察,探讨了痛泻要方对内脏高敏感性 IBS大鼠模型的疗效和作用机理。现报告如下。

1 材料和方法

收稿日期:2005-09-20

基金项目:国家中医药管理局中医药科学技术研究专项计划(N^o04-05 JF09)

作者简介:赵玉斌,(1971~),男,河北省石家庄市人,副主任医师,石家庄市第三医院,主要从事肠道疾病的临床与研究,电话:0311-86271188 E-mail:drzhyub@sjna.com

*通讯作者:李佃贵,博士生导师。

1.1 材料(对象)

1.1.1 动物及饲养 清洁级新生 SD大鼠 75只, ♀♂各半, 体重(11±2)g 年龄 8 d由河北医科大学实验动物中心提供, 动物合格证号: 050115

1.1.2 饲料 颗粒饲料, 由河北医科大学实验动物中心提供。

1.1.3 实验药品 由河北医科大学中医院提供, 经本院生药教研室鉴定为正品。

痛泻要方的制备方法 痛泻要方由白术、白芍、陈皮、防风组成, 按处方比例取一定量的药材, 水煎后溶液按要求浓缩到所需浓度。低剂量每毫升含生药 1.5 g 高剂量每毫升含生药 3 g

匹维溴铵片(diceel) 法国苏威制药生产, 批号: 20040508 用法: 碾碎后溶于蒸馏水, 每毫升含 1.5 mg

CGRP SP放免试剂盒 北京晶美生物工程有限公司提供。酸性正丁醇、正庚烷、OPT溶液、半胱氨酸: 为 Sigma公司提供。

1.1.4 实验仪器 FMJ182型放射免疫 γ计数器(上海原子核研究所日环仪器厂); 海尔牌 BCD-286H低温冰箱(-70 °C); 德国产 MIKR22R低温离心机。

1.2 方法

1.2.1 1BS模型制作方法 模型组采用醋酸结肠慢性刺激法造成肠道高敏感性的 1BS大鼠模型⁽¹⁾。对照组同法给予等量 0.9% 的生理盐水, 作为对照。共持续 3周。从第 4周开始的 2周内, 停止造模, 不进行任何实验操作。

分别在造模后的第 10周对实验大鼠进行肠道敏感性评估: ①评估大鼠的腹部回缩反射; ②记录腹壁肌电活动评估肠道敏感性。均按文献方法⁽²⁾, 进行。

1.2.2 分组及给药 将实验动物分为空白对照组(A组)、模型对照组(B组)、西药(匹维溴铵)组(C组)、中药低剂量组(D组)、中药高剂量组(E组)。从第 6周开始给药。空白对照组和模型对照组以生理盐水按 10 mL/kg 给, 西药组以匹维溴铵按 10 mL(5mg)/kg 给, 中药低剂量组、中药高剂量组分别以痛泻要方药液按 10 mL(15 g)/kg和 10 mL(30 g)/kg 给均连续给药 28 d每天 1次。给药期间, 停止造模。

1.3 观察指标

1.3.1 容量阈值 给药 4周(造模后第 10周)后以直肠内球囊扩张时腹部回缩反射和背部拱起作为标准, 记录容量阈值。

1.3.2 腹壁肌电活动 给药 4周(造模后第 10周)后以电生理仪记录直肠内球囊在不同容量下每次持续 5 min期间腹壁收缩次数。

1.3.3 血清 5-HT血浆 SP CGRP含量测定 给药 4周(造模后第 10周)后进行。血清 5-HT含量用荧光分光光度计法测定。血浆 SP CGRP含量用放免法测定。按放免试剂盒操作说明书进行。

1.4 统计学处理 结果用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 组间变量比较用 t 检验。

2 结果

2.1 行为测试 用药后, B组与 A C D E组相比, 引起大鼠腹部抬起和背部拱起的扩张容量阈值明显降低, 差异显著, 而 C D E组与 A组相比, 均无显著差异; 见表 1。

表 1 各组引起大鼠腹部抬起和背部拱起的扩张容量阈值(mL $\bar{x} \pm s$)

组别	n	abdomen up lifting	back arching
normal control group(A)	15	1.753±0.102	0.979±0.021
model control group(B)	15	1.006±0.031**	0.481±0.141*
diceel control group(C)	15	1.597±0.113 [▲] [△]	0.724±0.154 [▲] [△]
15 g/kg of TXYF group(D)	15	1.601±0.025 [▲] [△]	0.823±0.082 [▲] [△]
30 g/kg of TXYF group(E)	15	1.624±0.132 [▲] [△]	0.876±0.113 [▲] [△]

与空白对照组比较 * P<0.05 ** P<0.01 [▲]P>0.05 与模型组比较 [△]P<0.05

2.2 腹壁肌电活动记录 用药后, B组与 A E组相比, 在 1.0 mL、1.5 mL扩张容量时, 大鼠腹壁肌肉收缩次数明显增加, 差异非常显著(P<0.01), 而 C D组与 B组相比, 差异显著(P<0.05)。见表 2。

表 2 不同扩张容量下各组大鼠腹壁肌肉收缩次数(次/5 min $\bar{x} \pm s$)

组别	(n)	Times	
		1.0 mL	1.5 mL
空白对照组(A)	15	7.78±1.12	12.57±1.22
模型对照组(B)	15	12.26±1.31**	18.42±1.42*
diceel control group(C)	15	8.01±1.13 [▲] [△]	12.71±1.54 [▲] [△]
15 g/kg of TXYF group(D)	15	8.16±1.17 [▲] [△]	12.83±1.41 [▲] [△]
30 g/kg of TXYF group(E)	15	7.24±1.13 [▲] [△]	12.72±1.11 [▲] [△]

与空白对照组比较 * P<0.05 ** P<0.01 [▲]P>0.05 与模型对照组比较 [△]P<0.05

2.3 血清 5-HT含量测定 用药后, C D E组与 B组相比, 血清 5-HT含量明显回落, 差异显著(P<0.05); B组与 A组相比, 血清 5-HT含量显著增加, 差异极显著(P<0.01)。见表 3。

表 3 各组血清 5-HT含量 (ng/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	level of 5-HT
空白对照组 (A)	10	121.11 ± 4.12
模型对照组 (B)	10	268.16 ± 5.71**
dicetel control group (C)	10	129.597 ± 3.13 [▲]
15 g/kg of TXYP group (D)	10	139.62 ± 3.75 [▲]
30 g/kg of TXYP group (E)	10	128.66 ± 4.72 [▲]

与空白对照组比较 ** P < 0.01, [▲] P > 0.05; 与模型组比较 [△] P < 0.05.

2.4 血浆 SP含量测定 用药后, C组、D组与 B组相比, 无显著差异 (P > 0.05), E组与 B组相比, 血浆 SP含量回落, 有显著差异 (P < 0.05); B组与 A组相比, 血浆 SP含量增加, 差异非常显著 (P < 0.01); 而 C、D、E组与 A组相比, 均无显著差异 (P > 0.05)。见表 4。

表 4 各组血清 SP含量 (ρ g/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	(n)	level of SP
空白对照组 (A)	10	41.11 ± 4.12
模型对照组 (B)	10	68.24 ± 2.11**
dicetel control group (C)	10	62.597 ± 3.13 [▲]
15 g/kg of TXYP group (D)	10	63.83 ± 4.75 [▲]
30 g/kg of TXYP group (E)	9	48.36 ± 3.12 [△]

与空白对照组比较 ** P < 0.01, [▲] P > 0.05; 与模型组比较 [△] P < 0.05.

2.5 血浆 CGRP含量测定 用药后, E组与 B组相比, 血浆 CGRP含量增加, 差异有显著性 (P < 0.05), C组、D组与 B组相比, 血浆中 CGRP含量无显著差异 (P > 0.05)。B组与 A组相比, 血浆中 CGRP含量明显降低, 有统计学意义 (P < 0.05)。见表 5。

表 5 各组血清 CGRP含量 (ρ g/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	level of CGRP
空白对照组 (A)	10	154.11 ± 4.25 [△]
模型对照组 (B)	10	98.24 ± 3.41
dicetel control group (C)	9	112.16 ± 4.23*
15 g/kg of TXYP group (D)	10	116.31 ± 5.25*
30 g/kg of TXYP group (E)	10	147.21 ± 3.51 [▲] [△]

与空白对照组比较 [▲] P > 0.05; 与模型组比较 [△] P < 0.05, * P > 0.05.

3 讨论

IBS的首要症状是腹痛, 本实验结果表明, 模型大鼠血清 5-HT含量显著增加, 研究发现⁽³⁾, 5-HT₂ 与人的外周组织所产生的急性痛觉可能是由 5-HT₂ 受体亚型介导的。IBS患者服用 5-HT₂ 受体拮抗剂后, 其疼痛感觉阈值明显提高。本项研究也表明, 用药后, C、D、E组与 B组相比, 血清 5-HT含量明显回

落, 差异显著; B组与 A组相比, 血清 5-HT含量显著增加, 差异极显著。因此, 我们认为 IBS患者外周 5-HT增高可能跟内脏痛觉过敏有直接的关系, 是内脏痛觉过敏发病机制的重要环节。本方大、小剂量与得舒特一样都能显著降低模型大鼠血清 5-HT含量。我们认为, 本方通过降低模型大鼠血清 5-HT含量, 减弱背角神经元兴奋性, 从而提高内脏痛阈, 消除肠道过敏。

SP广泛分布于神经系统和胃肠系统的肠肌间神经丛和黏膜下神经丛, 能够刺激和加速胃肠蠕动, 刺激唾液和胰腺分泌, 减少胆汁分泌; 同时, SP还具有神经递质和调制因子的作用。Frecierickson⁽⁴⁾等证明, 当小鼠给小剂量时, 可产生止痛作用。当给大剂量时, 可产生痛敏反应。这种现象可能是小剂量 SP可释放内源性阿片肽, 而大剂量刺激伤害反应通路上的神经活动。

本实验结果表明, IBS模型大鼠血浆 SP含量上升, 说明血浆 SP含量上升与 IBS的发病有重要联系; 本方中药大小剂量组都能显著降低模型大鼠血浆 SP含量, 以大剂量为甚, 匹维溴铵则不能。我们推测, 本方通过降低模型大鼠血浆 SP含量, 减弱背角神经元兴奋性, 从而提高内脏痛阈, 消除肠道过敏。

CGRP与多种神经递质或神经肽共存于一个神经元内, CGRP神经元纤维在中枢神经系统的投射极其广泛, 消化器官中含有丰富的 CGRP神经纤维, 其中胃和十二指肠含量较高, 可促进胃生长抑素释放而抑制胃酸分泌。

本实验结果表明, 模型大鼠血浆 CGRP含量下降, 但无统计学意义; 本方中药组与匹维溴铵都能使 CGRP含量回升, 但只有中药大剂量组有统计学意义。这提示, IBS可能引起血浆 CGRP含量下降, 而本方大剂量能通过提高血浆 CGRP水平而达到治疗效果。

综上所述, 痛泻药方能降低 IBS模型大鼠血清 5-HT、血浆 SP含量, 增加 CGRP含量, 大剂量痛泻药方疗效优于匹维溴铵。痛泻药方的作用机制可能是通过降低 IBS模型大鼠血清 5-HT、血浆 SP含量, 减弱背角神经元兴奋性, 从而提高内脏痛阈, 消除肠道过敏, 从而达到治疗目的, 为发挥痛泻药方多途径、多靶点及整体治疗的优势, 科学开发利用痛泻药方提供科学依据。

[成分分析]

香叶天竺葵油抗氧化作用及其化学表征

王淳凯, 瞿伟菁*, 孙 伟, 李玉菊

(华东师范大学生命科学学院 上海 200062)

关键词: 香叶天竺葵油; 抗氧化; 化学表征

摘要: 目的: 研究香叶天竺葵油 (PLO) 的化学表征, 寻找抗氧化作用的物质基础。方法: 测定 PLO 体外抑制豚鼠心、肝、肾脂质过氧化、清除 $O_2^{\cdot -}$ 、 $\cdot OH$ 二苯代苦味基自由基 (DPPH \cdot) 和抑制 H_2O_2 诱导的红细胞氧化溶血的作用, 用气相色谱法对 PLO 进行化学表征, 测定其单体对 DPPH \cdot 的清除作用。结果: 经方差分析表明, PLO 对豚鼠肝、肾、心自发脂质过氧化、 CCl_4 诱导的肝脂质过氧化及中高剂量抑制 H_2O_2 诱导的红细胞溶血作用有极显著的 ($P < 0.01$) 抑制作用。对 $O_2^{\cdot -}$ 和 DPPH \cdot 的清除作用与阴性对照相比有极显著的差异 ($P < 0.01$)。气相色谱和单体抗氧化实验证实占 PLO 组分 30.06% 的香茅醇抗氧化能力与 PLO 接近。结论: PLO 有抗氧化能力, 香茅醇是主要抗氧化成分。

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-1528(2006)06-0855-06

Antioxidation and chemical characterization of essential oil from *Peltargonium graveolens* L'Her

WANG Chun-kai QU Wei-jing SUN Wei LI Yu-ju

(School of Life Science East China Normal University Shanghai 200062, China)

KEY WORDS: essential oil from *Peltargonium graveolens* L'Her; antioxidation; chemical characterization

ABSTRACT: AM: To study medical effect of the antioxidation activity of essential oil from smell storusbill (*Peltargonium graveolens* L'Her) (PLO) METHODS: Free radicals ($O_2^{\cdot -}$, $\cdot OH$ and DPPH \cdot) scavenging activities were investigated in different special chemical systems Its anti-lipoperoxidation activity was studied with MDA generation model in vitro The effect of the hemolysis of cavity RBC induced by H_2O_2 was also studied The components of PLO was identified by GC-FID RESULTS: It was found that PLO showed higher anti-lipoperoxidation on MDA generation spontaneously in homogenates of cavity heart liver and kidney There were significant differences on lipid peroxidant of the cavity liver homogenate induced by CCl_4 between control group and PLO There were higher scavenging effect of the extracts of foliage on $O_2^{\cdot -}$ and DPPH \cdot PLO could strongly inhibit the hemolysis of cavity RBC induced by H_2O_2 The result of GC-FID and DPPH \cdot scavenging activities indicated that the antioxidation of citronellol was similar with PLO CONCLUSION: PLO is a good antioxidation and citronellol is the main antioxidant substance in PLO

收稿日期: 2005-05-11

作者简介: 王淳凯 (1980~), 男, 硕士研究生, 研究方向: 药用植物化学, 电话: 021-62233584 E-mail: wchunka@yahoo.com.cn

* 通讯作者: 瞿伟菁。

参考文献:

[1] AL-Chaer ED, Kawasaki M, Pasricha PJ. A new model of chronic visceral hypersensitivity in adult rats induced by colon irritation during postnatal development [J]. *Gastroenterology*, 2000, 119 (5): 1276-1285.

[2] 刘雁冰, 袁耀宗, 陶然君等. 大鼠肠道高敏性模型的建立及其内脏敏感性评估 [J]. *中华消化杂志*, 2003, 23(1): 34-38.

[3] Monnikes H, Ruter J, König M, et al. Differential induction of c-fos expression in brain nuclei by (noxious) and non-noxious colonic distension: Role of afferent C fibers and 5-HT $_3$ receptors [J]. *Braint Res*, 2003, 966(2): 253-264.

[4] 董文珠, 李兆申, 许国铭, 等. 肠易激综合征肥大细胞与 P 物质免疫反应阳性神经纤维的实验研究 [J]. *中华消化杂志*, 2002, 22(11): 656-660.